

Cold and diet induced thermogenesis in humans; Implications for obesity

Citation for published version (APA):

Wijers, S. L. J. (2011). *Cold and diet induced thermogenesis in humans; Implications for obesity*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. <https://doi.org/10.26481/dis.20110407sw>

Document status and date:

Published: 01/01/2011

DOI:

[10.26481/dis.20110407sw](https://doi.org/10.26481/dis.20110407sw)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

Summary

The amount of the population suffering from overweight and obesity is rising worldwide. Health problems coinciding with this global weight gain are becoming increasingly serious. To prevent these problems it is a necessity to find effective ways of losing weight and remaining weight stable. In the end, it is necessary to make sure long-term energy expenditure is higher than or equal to energy intake. Weight loss methods in which energy intake is restricted seem to have only limited long-term effects in a large part of the population. Therefore, it is of interest to look at the other side of the balance: energy expenditure.

In this thesis, studies investigating the phenomena cold and diet induced adaptive thermogenesis are described: the increase in energy expenditure in response to temperature changes or food intake. By increasing energy expenditure after cold exposure, resulting in additional heat production, an organism is protected against hypothermia. By increasing energy expenditure after overfeeding, less calories are stored and energy balance is better maintained. In **CHAPTER 2**, the current evidence related to these phenomena is reviewed. Mitochondrial uncoupling seems to be the process that is responsible for adaptive thermogenesis. In the mitochondria, the energy factories of the cell, energy released with combustion of the macronutrients is stored initially as a proton gradient across a membrane. Subsequently, this stored energy is used to convert ADP into ATP, mediated by the enzyme ATP synthase. ATP is the energy carrier used as fuel in cellular processes. Mitochondrial uncoupling makes the conversion of ADP into ATP less efficient, because protons flow back across the mitochondrial membrane, bypassing ATP synthase. In this way, additional heat is produced. This can take place in skeletal muscle tissue, or in brown adipose tissue. Contrary to white adipose tissue, brown adipose tissue does not store fat, but produces heat. Other possible processes involved in adaptive thermogenesis are calcium and substrate cycling, and protein turnover. In these processes, ATP is used to produce heat, instead of being used for other processes in the cells. Mitochondrial uncoupling in skeletal muscle tissue is the foremost mechanism studied in this thesis.

CHAPTER 3 describes two studies on energy expenditure upon mild cold exposure and during overfeeding in the same subjects. For this reason, thirteen subjects stayed three times in a respiration chamber: 1) 36 h at 22 °C with normal food intake (control situation); 2) 84 h at 16 °C with normal food intake (mild cold); 3) 84 h at 22 °C with 1.6 times normal food intake (overfeeding). In a respiration

chamber, O₂ consumption and CO₂ production can be measured. From these data, energy expenditure can be calculated. Cold induced adaptive thermogenesis is the difference in energy expenditure between visit 2 and 1. Diet induced adaptive thermogenesis is the difference in energy expenditure between visit 3 and 1. The increase in energy expenditure upon mild cold exposure and overfeeding was modest, but the interindividual differences were large. Some subjects increased daily energy expenditure with almost 15%, whereas others did not show an increase in energy expenditure at all. Remarkably, the individual metabolic responses to mild cold exposure and overfeeding were significantly related, implicating a shared mechanism. Changes in norepinephrine concentrations were related to the increases in energy expenditure, suggesting involvement of the sympathetic nervous system.

CHAPTER 4 shows that mitochondrial uncoupling in skeletal muscle tissue indeed has a relationship with cold induced adaptive thermogenesis. To investigate this, eleven subjects were exposed to 16 °C for three days. Subsequently a muscle biopsy was taken to measure mitochondrial uncoupling. These tests are performed by measuring O₂ consumption of individual muscle fibers with subsequently blocking ATP synthase. All O₂ consumption still left, is due to mitochondrial uncoupling. As we expected, after three days of cold exposure, the increase in energy expenditure was related to the increase of skeletal muscle mitochondrial uncoupling.

Next, it was studied which functional proteins are involved in adaptive thermogenesis (**CHAPTER 5**). This has been investigated using so called proteomic techniques in small pieces of skeletal muscle tissue. The proteins that are present in the muscle tissue can be identified, including the amount and the change in abundance upon the intervention. The amounts of proteins available can be related to the increase in energy expenditure after cold exposure or overfeeding. These tests show that different proteins are active upon cold exposure than upon overfeeding, although glycolysis seems to be the most prominently activated pathway in both interventions.

CHAPTER 6 deals with the thermogenic effect of mild cold exposure in both lean and obese subjects. Obese subjects did not increase energy expenditure significantly, while lean subjects increased energy expenditure on average. Body temperature data indicated that this difference could be attributed to a larger tissue (fat) insulation and/or lower surface to volume ratio in the obese subjects. Interestingly, individual increases in energy expenditure were related to changes in physical

activity, although a general decrease in physical activity was observed. This means that an increase in energy expenditure is not simply caused by an increase in physical activity.

To gain more insight in the regulation of adaptive thermogenesis, in **CHAPTER 7** a study showing the effect of blocking β -receptors of the sympathetic nervous system on cold induced adaptive thermogenesis in lean subjects is described. These receptors are proposed to be involved in adaptive thermogenesis. Noteworthy, cold induced adaptive thermogenesis did not decrease when β -adrenergic receptors were blocked. Nevertheless, the relation between cold induced adaptive thermogenesis and the change in skeletal muscle mitochondrial uncoupling disappeared. The most plausible explanation is that propranolol, the β -blocker used in this study, does inhibit β_1 - and β_2 -receptors to a larger extent than β_3 -receptors. Therefore, the results indicate that when the β_1 - and β_2 -receptors are blocked by propranolol, a β_3 -regulated process like mitochondrial uncoupling in brown adipose tissue might take over the role of skeletal muscle mitochondrial uncoupling.

The research presented in this thesis shows that adaptive thermogenesis is potentially an important process involved in the regulation of energy expenditure. It can also explain part of the observed threefold range in cost of weight gain between individuals during overfeeding. However, to decipher what happens exactly upon cold exposure and overfeeding, more research is needed. Especially integrating data obtained from different organs (foremost muscle and brown adipose tissue) with whole body measures will give new and essential information. To investigate whether diminished adaptive thermogenesis causes obesity, or whether it is just a result of being overweight, longitudinal studies are necessary, following subjects over a longer period of time.

Samenvatting

Samenvatting

Het aantal mensen met overgewicht en obesitas groeit wereldwijd. De gezondheidsproblemen die veroorzaakt worden door deze wereldwijde gewichtstoename nemen steeds grotere vormen aan. Om deze problemen te voorkomen is het noodzakelijk om effectieve manieren te vinden om gewicht te verliezen en dit gewichtsverlies te behouden. Uiteindelijk gaat het er hierbij altijd om dat de hoeveelheid energie die gebruikt wordt groter is dan of gelijk blijft aan de hoeveelheid energie die ingenomen is. Afvalmethoden waarbij de energie-inname beperkt wordt lijken een gering effect te hebben op lange termijn. Het is daarom interessant om ook te kijken naar de andere kant van de balans, het energiegebruik.

In dit proefschrift wordt onderzoek naar de fenomenen koude en voeding geïnduceerde adaptieve thermogenese (cold and diet induced adaptive thermogenesis) beschreven: de toename in energiegebruik naar aanleiding van een temperatuurswisseling of de inname van voedingsstoffen. Door extra energie te gebruiken na koudeblootstelling, met als resultaat dat er warmte geproduceerd wordt, wordt een organisme beschermd tegen onderkoeling. Door extra energie te gebruiken na overvoeden worden er minder calorieën opgeslagen en wordt de energiebalans beter in stand gehouden. In **HOOFDSTUK 2** wordt de huidige stand van de wetenschap met betrekking tot deze fenomenen besproken. Mitochondriële ontkoppeling lijkt het proces te zijn dat adaptieve thermogenese veroorzaakt. In de mitochondria, de energiefabrieken van de cel, wordt de energie die vrijkomt bij de verbranding van voedingsstoffen in eerste instantie opgeslagen in een protonengradiënt over een membraan. Vervolgens wordt met deze energie ADP omgezet in ATP door het enzym ATP synthase. ATP is de energiedrager die in cellulaire processen gebruikt wordt als brandstof. Bij mitochondriële ontkoppeling is de omzetting van ADP in ATP minder efficiënt, doordat protonen terug stromen over het mitochondriële membraan en hierbij de ATP synthase mijden. Hierdoor komt extra warmte vrij. Dit kan zowel in het skeletspierweefsel als in bruin vetweefsel plaatsvinden. In tegenstelling tot (normaal) wit vetweefsel slaat bruin vetweefsel geen vet op, maar produceert het warmte. Andere mogelijke processen betrokken bij adaptieve thermogenese zijn calcium- en substraat-cycli en eiwit-omzettingen. Deze processen hebben met elkaar gemeen dat ATP gebruikt wordt voor warmteproductie in plaats van voor andere processen die plaatsvinden in de cellen. Mitochondriële ontkoppeling in skeletspierweefsel is het belangrijkste mechanisme dat bestudeerd wordt in dit proefschrift.

HOOFDSTUK 3 beschrijft twee onderzoeken naar het energiegebruik bij milde koude en tijdens overvoeding bij dezelfde personen. Hiervoor verbleven dertien personen drie keer een periode in een respiratiekamer: 1) 36 uur bij 22°C met normale voeding (controle situatie); 2) 84 uur bij 16 °C met normale voeding (milde koude); 3) 84 uur bij 22 °C met 1.6 maal de normale voeding (overvoeding). In een respiratiekamer kan de O₂-consumptie en CO₂-productie gemeten worden. Uit deze gegevens kan het energieverbruik van de betreffende persoon berekend worden. Koude geïnduceerde adaptieve thermogenese is het verschil in energieverbruik tussen respiratiekamerverblijf 2 en 1. Voeding geïnduceerde adaptieve thermogenese is het verschil in energieverbruik tussen respiratiekamerverblijf 3 en 1. Opvallend waren de grote verschillen in deze metabole respons tussen individuen. Sommigen verhoogden hun totale dagelijkse energieverbruik helemaal niet, anderen lieten een toename van bijna 15% zien. De individuele verschillen in de toename in energieverbruik naar aanleiding van overvoeding en koudeblootstelling blijken aan elkaar gerelateerd te zijn. Dit impliceert dat hetzelfde mechanisme beide responsen reguleert. Aangezien de verandering in norepinephrine-concentratie in het bloed correleert met de verandering in energieverbruik in beide situaties, is het sympathisch zenuwstelsel waarschijnlijk betrokken bij de regulatie van deze mechanismen.

HOOFDSTUK 4 toont aan dat mitochondriële ontkoppeling in skeletspierweefsel gerelateerd is aan koude geïnduceerde adaptieve thermogenese. Om dit te onderzoeken zijn elf personen drie dagen blootgesteld aan een temperatuur van 16 °C. Vervolgens is een spierbiopsie afgenomen om de mate van mitochondriële ontkoppeling te meten. Deze meting is uitgevoerd door de O₂-consumptie van individuele spiervezels te meten en in deze stukjes spier de ATP synthase uit te schakelen. Alle O₂-consumptie die dan nog overblijft wordt veroorzaakt door mitochondriële ontkoppeling. Zoals verwacht was de toename in mitochondriële ontkoppeling na drie dagen koudeblootstelling gerelateerd aan de toename in energieverbruik in de kou.

Vervolgens is bestudeerd welke functionele eiwitten betrokken zijn bij adaptieve thermogenese (**HOOFDSTUK 5**). Dit is onderzocht door zogenaamde proteomics-technieken toe te passen op kleine stukjes spierweefsel. Hiermee kan gekeken worden welke eiwitten aanwezig zijn in de spier, in welke concentratie, en hoe deze concentratie verandert als gevolg van een interventie. De concentraties eiwitten zijn vervolgens gerelateerd aan de toename van energieverbruik na koudeblootstelling en overvoeden. Hieruit blijkt dat in beide situaties andere eiwitten verantwoordelijk

zijn voor de respons. Daarentegen is in beide gevallen de glycolyse het meest geactiveerd door de interventies.

In **HOOFDSTUK 6** wordt de reactie op koude vergeleken tussen slanke en obese proefpersonen. Deze vergelijking laat zien dat de obese personen hun energieverbruik gemiddeld niet verhogen, terwijl de slanke personen dit wel doen. Het analyseren van gemeten huidtemperaturen laat zien dat dit veroorzaakt wordt door een betere isolatie van de obese proefpersonen. Dit kan komen door de grotere vetlaag en/of doordat ze een kleinere oppervlakte-volume ratio hebben. In beide groepen was de mate van koude geïnduceerde adaptieve thermogenese gerelateerd aan veranderingen in het bewegingspatroon, al was de totale hoeveelheid beweging verlaagd na koudeblootstelling. Dit betekent dat de toename in energiegebruik niet simpelweg ontstaat door een toename in beweging.

In **HOOFDSTUK 7** is de regulatie van koude geïnduceerde adaptieve thermogenese onderzocht. Hiervoor zijn de β -receptoren van het sympathische zenuwstelsel geblokkeerd. Van deze receptoren wordt onder andere aangenomen dat ze verantwoordelijk zijn voor adaptieve thermogenese. Na blokkade van de β -receptoren bleek de koude geïnduceerde adaptieve thermogenese echter niet kleiner geworden. De relatie tussen mitochondriële ontkoppeling en koude geïnduceerde adaptieve thermogenese bleek echter wel verdwenen te zijn na blokkade. Een ander proces, mogelijk mitochondriële ontkoppeling in bruin vetweefsel, neemt dan de rol van skeletspier mitochondriële ontkoppeling over om koude geïnduceerde adaptieve thermogenese te veroorzaken.

De onderzoeken die gepresenteerd zijn in dit proefschrift laten zien dat adaptieve thermogenese een belangrijk proces kan zijn bij de regulatie van energieverbruik. Om echter exact te achterhalen wat er gebeurt na koudeblootstelling en overvoeding, is vervolgonderzoek nodig dat zich richt op het integreren van data van verschillende organen (met name spier en bruin vet) in combinatie met metingen op lichaamsniveau. Om te bekijken of een verminderde adaptieve thermogenese daadwerkelijk overgewicht veroorzaakt, of slechts een resultaat is van overgewicht, zijn longitudinale studies nodig die proefpersonen over een langere periode opvolgen.